

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 03-035144

(43)Date of publication of application : 15.02.1991

(51)Int.Cl.

G01N 21/07

G01N 35/00

(21)Application number : 01-170687

(71)Applicant : NIPPON SHOJI KK

(22)Date of filing : 30.06.1989

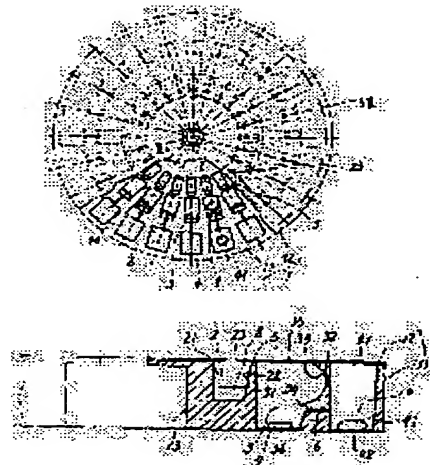
(72)Inventor : ISHIDA AKIRA

(54) ROTARY CUVETTE

(57)Abstract:

PURPOSE: To easily enable double liquid measurement using the rotary cuvette by providing two reaction chambers where a measurement reagent is held and moving a sample sequentially.

CONSTITUTION: The rotary cuvette which is used for a centrifugal device for sample analysis is provided with a sample injection chamber 2 where the sample 8 is stored on the rotational center side, a 1st reaction chamber 3 radially outside it, and a 2nd reaction chamber 4 radially outside it. Then a 1st passage 5 which communicates with the 1st reaction chamber 3 is open above the sample injection chamber 2 and the 1st reaction chamber 3 is provided with a recessed part 33 formed in the rear wall 32 on the outer peripheral side of a disk opposite the 1st passage and the 2nd passage 6 opened below it while communicating with the 2nd reaction chamber 4. Further, a weir 34 projects from the rear wall of the 1st reaction chamber between the recessed part 33 and 2nd passage 6. Consequently, a target material can accurately be measured without being affected by coexistent materials in the sample. Further, the inspection of the sample by two-stage reaction is easily performed and an automatic analyzing device is reducible in size.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

⑫ 公開特許公報(A) 平3-35144

⑮ Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成3年(1991)2月15日

G 01 N 21/07
35/00

D

7905-2G
7403-2G

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全8頁)

⑭ 発明の名称 ロータリー・キューベット

⑯ 特 願 平1-170687

⑰ 出 願 平1(1989)6月30日

⑱ 発 明 者 石 田 明 大阪府高槻市真上町6丁目9番1-504号

⑲ 出 願 人 日本商事株式会社 大阪府大阪市中央区石町2丁目2番9号

⑳ 代 理 人 弁理士 丸山 敏之 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

ロータリー・キューベット

2. 特許請求の範囲

① 検体分析用遠心装置に用いるロータリー・キューベットにおいて、回転中心側に検体(8)を収容する検体注入室(2)、該検体注入室(2)の半径方向外側に第1反応室(3)、該第1反応室の半径方向外側に第2反応室(4)が形成され、検体注入室(2)の上部に第1反応室(3)に連通する第1通路(5)が開設され、第1反応室(3)には円盤の外周側の後壁(32)に第1通路に対向して凹部(33)及び該凹部(33)の下方に第2反応室(4)に連通する第2通路(6)が開設され、凹部(33)と第2通路(6)との間に堰(34)が第1反応室の後壁に突設されているロータリー・キューベット。

② 第2反応室(4)の天井面と底面とに光学測定用の光学窓(41)(42)が形成されている特許請求の範囲第1項に記載のロータリー・キューベッ

ト。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は臨床検査等において、液状検体分析に使用するロータリー・キューベットに関する。

(従来の技術及び問題点)

予め試薬を収容した円盤に、液状検体を容れ、試薬と検体とを反応させて分析を行うための目動装置及びロータリー・キューベットが知られている。

このロータリー・キューベットの一例が、特開昭63-75641号公報に記載されている。

上記ロータリー・キューベットは第6図、第7図に示す如く、円盤(1)の回転中心側に検体(8)を収容する検体注入室(2)を形成し、外周部に試薬(9)を収容した反応室(3)を形成しており、検体注入室(2)と反応室(3)とは細い通路(5)で連通している。

希釈された検体(8)が検体注入室(2)に収容されるが、試薬(9)と検体(8)の反応は多くの場合、時

間を管理して行なっているため、希望するときまで検体(8)と試薬は隔離し、両者の接触を防げている。

円盤(1)を回転させると、検体(8)は遠心力によって通路(5)を通り反応室(3)に流入して試薬(9)に到達し反応する。

公知の測光装置(7)により、反応室(3)の天井面と底面に形成した光学窓(35)(36)を通して光を当て、試薬と反応後の検体の光学特性の変化、例えば光吸収度、透明度、色度、反射屈折率等の変化を測定する。

上記ロータリー・キューベットでは、検体(8)中の目的物質を測定する際、必然的に検体中の共存物質の影響を受けるため、正確な測定を行なうことは困難であった。

例えば、検体(8)に赤褐色のビリルビンが存在していると、試薬による呈色反応はビリルビンの赤褐色の影響を受けてプラス側にずれ、又、検体(8)にアスコルビン酸が存在していると、試薬による呈色反応は、アスコルビン酸による反応阻害

(8)の上澄液のみを重力により上澄液収容室(40)へ流下させ、再び円盤(1)を回転させて上澄液収容室(40)から通路(19)を経て、円盤(1)の外側に配備した測光室(43)に導くのである。

上記のロータリー・キューベットにおいて、試薬収容室(30)にビリルビンやアスコルビン酸を除去する第1試薬(9)、上澄液収容室(40)に実際の検査に必要な反応を行なわしめる第2試薬(図示せず)を収容しておき、反応室(3)にて、検体(8)と第1試薬(9)を反応せしめてビリルビンやアスコルビン酸を除去し、上澄液収容室にて検体(8)と第2試薬(9)を反応させて、これを測定することが可能である。

しかし、上記ロータリー・キューベットは、円盤(1)の上部と下部に部屋を形成しなければならず、製造上、円盤(1)を上澄液収容室(40)を含む下部体(11)と、検体注入室(2)、試薬収容室(30)及び反応室(3)を含む上部体(12)及び上部体の各部屋の天井となる蓋板(14)が必要となり、構造が複雑となる。

を受けてマイナス側にずれ、測定に精度が出ない。

精度の良い測定を行なうには、測定に先立ってビリルビンやアスコルビン酸を除去することであるが、上記ロータリー・キューベットでは不可能である。

第8図は、従来知られている他の公知例であって、円盤(1)の半径方向に中心から外方へ向かって検体注入室(2)、試薬収容室(30)、反応室(3)を配置し、該反応室の下方に上澄液収容室(40)を配し、各部屋が通路(16)(17)(18)によって繋がって構成である(特公昭49-20116号)。

上記第8図のロータリー・キューベットは、検体(8)と試薬(9)との反応時に測定の支障となる沈殿物が生成される場合、その沈殿物を除去することを目的とするものである。

即ち、検体注入室(2)に収容した検体(8)と試薬収容室(30)に収容した試薬(9)とを、円盤(1)の回転によって反応室(3)に導いて反応させ、反応によって生じる沈殿物を反応室の凹み部(39)に溜める。円盤(1)の回転を停止させて、反応室の検体

又、上澄液収容室(40)内の検体(8)を測光するために、円盤(1)の外側に、上面と下面に光学窓を有する測光室(43)を接続し、該測光室に溜まった検体(8)を公知の測光装置によって測定しなければならない、装置全体が複雑となり、大型化する問題がある。

本発明は、検体中の共存物質の影響を受けることなく、目的物質を正確に測定でき、又、検体を2段階反応せしめて行なう検査も簡単にでき、且つ自動分析装置の小形化に寄与できるロータリー・キューベットを明らかにするものである。

(課題を解決する為の手段)

本発明は、液状検体分析用遠心装置に用いるロータリー・キューベットにおいて、回転中心側に検体(8)を収容する検体注入室(2)、該検体注入室(2)の半径方向外側に第1反応室(3)、該第1反応室(3)の半径方向外側に第2反応室(4)が形成され、検体注入室(2)の上部に第1反応室(3)に連通する第1通路(5)が開設され、第1反応室(3)には円盤の外周側の後壁(32)に第1通路に対向して凹部

(33)及び該凹部(33)の下方に第2反応室(4)に通ずる第2通路(6)が開設され、更に凹部(33)と第2通路(6)との間において第1反応室の後壁(32)から堰(34)を突設したものである。

(作 用)

例えば予め、第1反応室(3)に第1試薬(9)、第2反応室(4)に第2試薬(91)を収容しておき、静止状態の円盤(1)の検体注入室(2)に検体(8)を注入する(第2図)。

円盤(1)を回転させると、検体(8)に遠心力が作用し、検体(8)は第1通路(5)を通過して第1反応室(3)に流入し、該通路に対向して形成された凹部(33)に溜まり、下方に流れ落ちることはない(第3図)。

円盤(1)の回転を止めると検体(8)は重力によって堰(34)を越えて第1反応室(3)の底に流れ落ち、第1試薬(9)に接する(第4図)。

検体と第1試薬を所定の時間だけ反応(以下、インキューベーション)させた後、再び円盤(1)を回転させる。

反応室(3)を素通りして、第2通路(6)から第2反応室(4)に流出することはない。

従って、検体注入室(2)に注入した検体(8)を遠心力作用で一旦第1反応室(3)の凹部(33)に溜めおき、次に回転を停止することにより、これを一挙に第1反応室(3)の底部に流し落として、第1試薬と反応させることができるため、インキューベーションの時間管理を極めて正確に行なうことができる。

凹部(33)と第2通路(6)の間には堰(34)が突設されているため、2回目の遠心操作の際、第2反応室(4)の底に溜まった検体(8)が凹部(33)に逆流することは防止される。2回目の遠心操作で検体は第2通路(6)から第2反応室(4)に流出して、第2反応室(4)での2回目の反応が確実に行なわれる。

又、本発明のロータリー・キューベットの円盤(1)上の半径方向に直列に形成された検体注入室(2)、第1反応室(3)及び第2反応室(4)の円盤の周方向の配列は、測定検体数又は測定項目に応じ

インキューベーションによって第1試薬(9)と反応を了えた検体(8)は遠心力の作用により第2通路(6)から第2反応室(4)に流入し、該反応室内に収容された第2試薬(91)に接する(第5図)。この時、第2通路(6)と凹部(33)の間には堰(34)が突設されており、該堰(34)に阻まれて検体(8)が凹部(33)に逆流することはない。円盤(1)の回転を止めて、第2反応室(4)内で所定時間だけ2回目のインキューベーションを行なう。

次に、公知の検査例えば光学特性を調べる場合は測光装置(7)によって、第2反応室(4)の天井面と底面とに形成された光学窓(41)(42)を通して検体に光を当て、検体の光学特性の変化、例えば光吸光度、不光学度、色度、反射屈折率等の変化を測定する。

上記の如く、第1反応室(3)の後壁には遠心力を受けて検体を一時的に保持する凹部(33)を有しており、2回繰り返される遠心操作の内、第1回目の遠心操作中は、遠心力によって検体(8)は凹部(33)に保持され、下方に流れ落ちたり、第1反

て適宜選択できる。

(実施例)

第1、第2図は、本発明に係る小形のプラスチック製の使い捨てロータリー・キューベットを示している。ここで用いられるプラスチック材料は、ポリエチレン等の比較的硬い材料で、また検体の分析に用いる試薬と反応しない材料ならば、その材質は問わない。

後記する光学窓(35)(36)、(41)(42)については上記条件の他に光学的に優れることを条件として加えれば、ポリエチレン等その材質は問わない。好ましくはこのプラスチック材料は熱溶着、接着剤、超音波接合の利く材質が望ましい。

又、ロータリー・キューベットは通常は、多くのプラスチック製品のキューベットの場合と同様に親水性の材料で形成される。そうでない場合は、公知の方法でこれを処理し、検体と接する表面を親水性とする。また、後記する第1、第2通路(5)(6)は疎水性を有していることが望ましい。

実施例ではロータリー・キューベットを構成す

る円盤(1)は2又は、それ以上の透明プラスチック部品によって形成されている。

下部材(11)の中央部に回転駆動軸(図示せず)に嵌合する係合部(13)が形成され、下部材の上面に係合部(13)を中心に夫々同じ面数の検体注入室(2)、第1反応室(3)、第2反応室(4)が円陣に且つ、半径線上に並んで開設されている。

上部材(12)は各部屋の天井壁となる蓋であり、通常、第1試薬(9)を第1反応室(3)に、第2試薬(91)を第2反応室(4)にそれぞれ予め収容した後、下部材に接合されている。

以下の説明で各部屋の前壁(21)、(31)とは円盤(1)の回転中心側の壁であり、後壁(22)(32)とは円盤(1)の外周側の壁である。

各検体注入室(2)の後壁(22)は上部が外側に緩やかに傾斜しており、該後壁(22)の上端に第1反応室(3)に連通する細い第1通路(5)が形成されている。検体注入室(2)の天井壁には検体注入口(23)が開設されている。

各第1反応室(3)の後壁(32)の上部には前記第

各第1反応室(3)と各第2反応室(4)の形状はその底面積が両者同一であれば円筒形でも方形でも

又、他の形状でも可い。この理由は夫々の光学的測定データに互換性を持たせるためである。

第1反応室(3)及び第2反応室(4)には、検査項目に対応して各種の試薬が収容されるが、第1反応室(3)に収容される第1試薬(9)は乾燥試薬、好ましくは凍結乾燥粉末もしくは錠剤状に製剤化された試薬でなければならない。

第2反応室(4)に収容される第2試薬(91)は液状であっても可い。

然して、分析すべき検体、例えば、血漿・血清もしくは尿のごとき体液成分を、ピペットまたは適当な用具によって検体注入口(23)から検体注入室(2)に注入する。この場合検体(8)は原濃度もしくは希釈液によって希釈されたものどちらかを用いる。注入される液量は分析に使用される試薬の種類により左右されることがあり、検体注入室(2)の容量よりも少なく、第1反応室(3)の底に溜まったとき、液面が第2通路(6)の高さに達しな

1通路(5)に対向して凹部(33)が形成され、該凹部(33)の下方に第2反応室(4)に連通する細い第2通路(6)を開設している。

第1、第2通路(5)(6)の内径は、物理的外力を加えなければ検体が通過せず、円盤の回転による遠心力によって検体が通過できる大きさとする。

前記凹部(33)は、対応する検体注入室(2)に注入された検体の全量を受容するのに十分な容量を有している。

第1反応室(3)の後壁(32)の下部は底側から徐々に外側に傾斜して第2通路(6)に向かっており、第2通路(6)の上方に於て、前壁側に向けて堰(34)が形成されている。

各第1反応室(3)は検体注入室(2)に比較して十分な容量を有しており、遠心操作中に空気による検体移動の妨害は生じない。

第1反応室(3)の天井壁、及び底壁は平らで平行な測光用の光学窓(35)(36)となっている。

各第2反応室(4)の天井壁、及び底壁も平らで平行な測光用の光学窓(41)(42)となっている。

ればよい。

1回目の遠心操作中に、検体(8)は第1通路(5)を通過し、第1反応室(3)中の凹部(33)に留どまる。

1回目の遠心操作を終了した時点で検体(8)は凹部(33)より第1反応室(3)の底部に一挙に落下し、第1反応室(3)の底に保持されている第1試薬(9)を溶解し、第1のインキューベーションが行なわれる。ここでの反応は、反応試薬を2種類に分ける反応であれば、その原理を問わないが、検体中に存在している測定目的物質以外の物質が測定値へ悪影響を及ぼすことを回避するため、これ等阻害物質を除去する反応が適している。

第1反応室(3)は、ここでの反応液の液面高さが第2通路(6)の高さまで達しないように設計されているため、円盤(1)が停止している状態では、第1反応室(3)内の検体(8)が第2反応室(4)に流出することはない。

検体(8)が第1反応室(3)の底部に落下した時点で、ロータリー・キューベットに対して若干の振

動を与え、検体(8)と第1試薬(9)との反応を促進させる。第1反応室(3)に検体(8)が存在する間は、任意の温度に昇温もしくは降温されて恒温に保持される。

第1反応室(3)の天井壁及び底壁に光学窓(35)(36)が設けられているため、必要に応じて、第1反応室(3)内の検体を光学測定することができる。

第1反応室(3)において、所定の時間存在した検体と試薬の混合液は、再び遠心操作によって第2通路(6)を通過して第2反応室(4)に到達する。検体(8)は第2反応室(4)に保持された第2試薬(91)に接して2回目の反応が行なわれる。

また2回目の遠心操作終了後、ロータリー・キューベットに対して2回目のインキュベーションを行ないロータリー・キューベットに対して若干の振動を与えて反応を促進させる。第1反応室(3)の場合と同様に検体(8)は第2反応室(4)に存在している間、任意の温度に昇温もしくは降温され恒温に保持される。

第2反応室(4)内での光学的変化の測定は任意

-3,5-ジメトキシアニリンナトリウム

第1反応

検体を第1試薬に加えて、4分間インキュベーションする。

検体中に含まれるビリルビンは、第1試薬との反応によって消去される。

第2反応

第1反応後の検体を第2試薬に加えて、5分間インキュベーションする。

検体は青色発色反応を示す。

効果

第1反応によってビリルビンは消去されているため、第2反応による青色発色反応の測定値にビリルビンの影響はない。

【具体例 2】

共存物質の影響を除く方法

測定項目 コレステロール

検体

血清を希釈液で希釈したもの

第1試薬

のタイミングで行なわれ、任意回数測定された時に測定の全工程が終了し、該ロータリー・キューベットは廃棄される。

又、検体の分析に際し、各検体注入室(2)には原濃度または希釈された異なった検体または同じ検体を収納して検体の分析を行なうことができる。

次に、具体例を示す。

【具体例 1】

共存物質の影響を除く方法

測定項目 コレステロール

検体

血清を希釈液で希釈したもの

第1試薬

- ・ビリルビン酸化酵素
- ・コレステロールエステラーゼ
- ・4-アミノアンチピリン

第2試薬

- ・コレステロール酸化酵素
- ・N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)

・アスコルビン酸酸化酵素

- ・コレステロールエステラーゼ
- ・4-アミノアンチピリン

第2試薬

- ・コレステロール酸化酵素
- ・N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)
- ・3,5-ジメトキシアニリンナトリウム

第1反応

検体を第1試薬に加えて、3分間インキュベーションする。

検体中に含まれるアスコルビン酸は、第1試薬との反応によって消去される。

第2反応

第1反応後、第2試薬に第1反応液を加えて、4.5分間インキュベーションする。

検体は青色発色反応を示す。

効果

第1反応によってアスコルビン酸は消去されているため、第2反応の呈色反応測定値には

アスコルビン酸の影響はない。

【具体例 3】

共存物質を除く方法

測定項目 トリグリセライド

検体

血清を希釈液で希釈したもの

第1試薬

- ・ グロセロールキナーゼ
- ・ L-グリセロール-3
- ・ ホスフェイトオキシダーゼ
- ・ アデノシン5'-三リン酸二ナトリウム三水和物
- ・ N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-α-アニシジンナトリウム

第2試薬

- ・ リパーゼ
- ・ 4-アミノアンチピリン

第1反応

検体を第1試薬に加えて、3分間インキュベーションする。

- ・ 4-アミノアンチピリン

第2試薬

- ・ アシル-CoA オキシターゼ
- ・ N-エチル-N-(2-スルホプロピル)-α-トルイジンナトリウム
- ・ N-エチルマレイミド

第1反応

検体を第1試薬に加えて、5分間インキュベーションする。

第2反応

第1反応後の検体を第2試薬に加え5分間インキュベーションして発色させる。

効果

第1反応後に残存するCoAは発色反応を妨害する作用があるが、N-エチルマレイミドによって反応妨害は排除され、吸光度の測定に影響しない。

(発明の効果)

従来より知られるロータリー・キューベットにおける分析法は、測定試薬を保持する試薬容器を

ベシオンする。

血清中に存在する遊離のグリセロールは、リパーゼと4-アミノアンチピリンを含まない第1試薬と反応して消去される。

第2反応

第1反応後の検体を第2試薬に加え、4～5分間インキュベーションして発色させる。

効果

第1反応によってグリセロールは消去されているので、吸光度の測定には影響しない。

【具体例 4】

2回反応によって検査する方法

測定項目 遊離脂肪酸

検体

血清を希釈液で希釈したもの

第1試薬

- ・ アシル-CoA シンセターゼ
- ・ コエンザイムA三リチウム
- ・ アデノシン5'-三リン酸二ナトリウム三水和物

重ねた反応室がひとつの測定項目に対して1室だけであったために、多くの成分を含む体液の分析においては、共存物質の影響を回避することのできる2液法測定を行うことは困難であった。

本発明では測定試薬を保持する反応室を2室設けて、シーケンシャルに検体を移動させることにより、簡単にロータリー・キューベットにおける二液法測定が可能になった。

また、従来のロータリー・キューベットと同様に1液法測定を行う場合には、第1、第2反応室(3)(4)の何れかの試薬を除いておくことにより、従来より知られるロータリー・キューベットと同様の性能とすることができる。

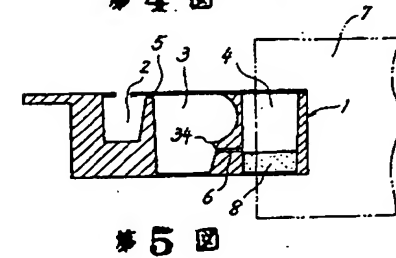
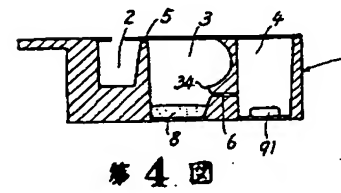
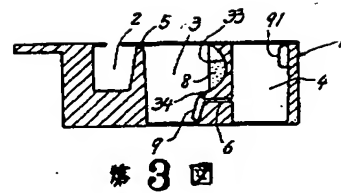
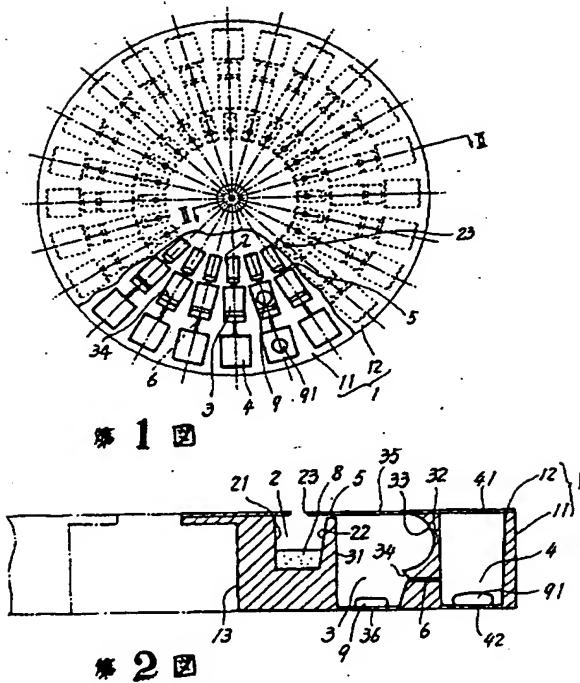
更に、本発明のロータリー・キューベットは円盤(1)上に、検体注入室(2)、第1反応室(3)及び第2反応室(4)が半径方向に直列に並んだ簡単な構成であるから、製造も容易である。

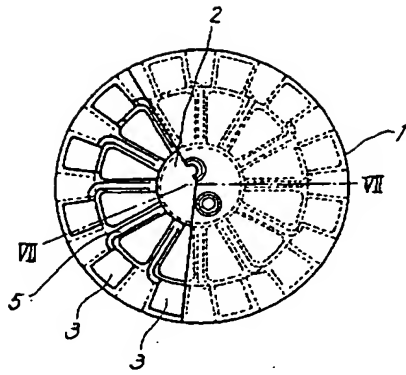
4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明の一例を示すロータリー・キューベットを一部破断した平面図、第2図は第1図

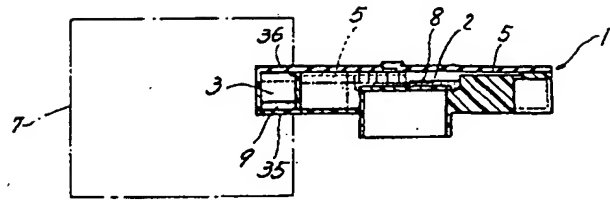
のⅡ-Ⅱ線に沿った拡大断面図、第3図は1回目の遠心操作の状態を示す断面図、第4図は検体が第1反応室の底に溜まっている状態の断面図、第5図は2回目の遠心操作終了後、検体が第2反応室の底に溜まっている状態を示す断面図、第6図は従来例のロータリー・キューベットの一部を破断した平面図、第7図は第6図Ⅶ-Ⅶ線に沿う断面図、第8図は他の従来例の断面図である。

- | | |
|-----------|-----------|
| (1)…円盤 | (2)…検体注入室 |
| (3)…第1反応室 | (33)…凹部 |
| (4)…第2反応室 | (5)…第1通路 |
| (6)…第2通路 | (8)…検体 |
| (9)…第1試薬 | (91)…第2試薬 |

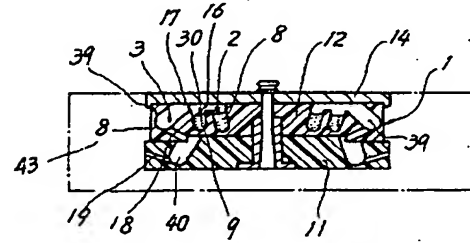




第 6 圖



第 7 圖



第 8 圖